

Jurnal Edited (cek similarity).docx

By AKROM

EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) ON REACTIVE OXYGEN INTERMEDIATES (ROI) SECRETION BY MAKROFAG OF Swiss MICE INFECTED BY *Plasmodium berghei*

Akrom¹, Mustofa², Indwiani astuti²

25

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

²Bagian Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

10

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak etanol *Phyllanthus niruri* terhadap aktivitas sekresi ROI oleh makrofag mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* dan hubungan antara aktivitas sekresi ROI dengan tingkat parasitemianya. Penelitian dilakukan pada 75 mencit Swiss jantan yang terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok I. II dan III sebagai kelompok perlakuan diberi ekstrak dengan dosis berturut-turut 5, 10, dan 100 mg/kg BB hari. Kelompok IV sebagai kontrol positif diberi vaksin malaria *P. berghei* stadium eritrosit dan kelompok V sebagai kontrol negatif diberi air. Air dan ekstrak etanol diberikan selama 14 hari dan infeksi dengan *P. berghei* dilakukan pada hari ke 14. Aktivitas sekresi ROI oleh makrofag diukur pada hari ke-, ke-2, ke-5 dan ke-7 setelah infeksi menggunakan uji NBT. Tingkat parasitemia hewan coba dievaluasi secara mikroskopik pada apusan darah tipis dan dikaji hubungannya dengan aktivitas sekresi ROInya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata persentase sekresi ROI oleh makrofag mencit Swiss yang diinfeksi *P.berghei* pada kelompok perlakuan (I. II, dan III) lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif, tetapi lebih rendah dari kelompok kontrol positif ($p<0,05$). Rata-rata persentase sekresi ROI oleh makrofag mencit yang diberi ekstrak dosis 10 mg/kgbb/hari lebih tinggi dibandingkan pemberian 5 dan 100 mg/kgbb/hari ($p<0,05$). Terdapat hubungan antara aktivitas sekresi ROI oleh makrofag dengan derajat parasitemia mencit ($r=-0,5$).

Kata kunci : ekstrak etanol. *Phyllanthus niruri*, makrofag, ROI

ABSTRACT

Effect of ethanol extract of *Phyllanthus niruri* to ROI secretion by peritoneal macrophage of male Swiss mice infected by *Plasmodium berghei* and the correlation ROI secretion by macrophage to its parasitemia have been investigated. The study was conducted on 75 Swiss mice divided in to 5 groups. The group I, II, and III were treated with ethanol extract dose 5, 10, and 100 mg/kgBW day respectively. Group IV as positive control was given malaria vaccine *P. berghei* on erythrocyte stadium and group V as negative control was treated with water. Water and ethanol extract were given during 14 days and in the 14th day mice were infected by *P.berghei*. The Reactive Oxygen Intermediates secretion of macrophage was determined on the - 0, 2nd, 5th, and the 7th day after infection by *P. berghei*. The *Reactive Oxygen Intermediates* secretion of macrophage was assessed with NBT reduction assay. Microscopic method was used to evaluate the parasitemia level from the thin blood smear.

The results showed that the ROI secretion by macrophage of Swiss mice at experimental groups (groups I, II and III) were higher than the negative control group although it was still but lower than the positive control group ($p<0.05$). The ROI secretion by macrophage after dose 10 mg/kgBW/day application was the highest compared with after 5 and 100 mg/kgBB/day ($p<0.05$) treatment. There was a negative correlation between the ROI secretion with the parasitemia level of male Swiss mice ($r= -0.5$).

Key words : ethanol extract, *Phyllanthus niruri*, macrophage, ROI

PENDAHULUAN

37

Makrofag sebagai efektor pada sistem imun seluler, berperan untuk memusnahkan *Plasmodium*, terutama pada tahap eritrosit. Setelah diaktivasi oleh interferon gama (IFN γ) yang dihasilkan oleh sel T *native*, makrofag segera berperan sebagai fagosit dengan melakukan fagositosis untuk memusnahkan

parasit (Abbas et al., 1994; Fitri, 1996; Yoneto et al., 1999). Pemusnahan parasit malaria oleh makrofag dapat dilakukan baik melalui mekanisme fagositosis langsung maupun melalui mekanisme tak langsung yaitu dengan melepaskan ROI (Supargiyono, 1995; Wijayanti, 1997; 1999; 2000). Aktivitas fagositosis makrofag dapat dipacu dengan pemberian zat-zat imunostimulansia, baik berupa vaksin maupun

senyawa kimiawi tertentu termasuk senyawa kimia alamiah (Supargiyono, 1995; Fitri, 1996; Ma'at, 1997; Wijayanti, 1999; Subramoniam et al., 2000; Hidayati & Akrom, 2003).

Proses pemusnahan parasit malaria (*P. berghei*) oleh makrofag diikuti oleh berbagai efek pada granulosit fagosit. Efek yang segera menyertai pada proses pemusnahan parasit malaria oleh makrofag antara lain 1) peningkatan konsumsi oksigen yang menyebabkan pembentukan radikal oksigen (13) pelepasan hidrogen peroksida (ROI) seperti anion superoksida, hidrogen peroksida dan hidroksil radikal; 2) peningkatan glikolisis melalui *herose monophosphate shunt*; 3) pemecahan lisosom dan enzim hidrolitiknya untuk selanjutnya masuk dalam vakuola fagosit menjadi bentuk vakuola digestif atau fagolisosom (Klein, 1991). Oksigen radikal bebas yang diproduksi merupakan bentuk respon pertahanan inang karena mempunyai efek antimikroba termasuk antiparasit. Disamping itu banyak bukti pula menunjukkan bahwa interaksi radikal oksigen dengan NO menghasilkan ONOO tidak hanya menunjukkan efek toksik terhadap patogen tetapi juga berfungsi sebagai mediator inflamasi. Semakin tinggi aktivitas fagositosis makrofag semakin banyak produksi ROI. Produksi ROI oleh makrofag dapat dinilai dengan uji NBT (*nitroblue tetrazolium reduction essay*). Prinsip uji ini adalah NBT akan dioksidasi oleh oksigen membentuk senyawa formazan yang tak larut sehingga dapat diamati (Wijayanti, 1996; 1997; Hidayati & Akrom, 2003; Baratawidjaya, 2004; Akrom, 2004).

Herba meniran atau *Phyllanthus niruri* disamping sebagai antimalaria juga memiliki efek sebagai imunomodulator (Ma'at, 1997; Sangat et al., 2000; Ignacio et al., 2001). Sekresi ROI maupun aktivitas fagositosis oleh makrofag mencit Swiss jantan meningkat setelah pemberian ekstrak etanol *P. niruri* selama 14 hari (Akrom, 2004). Pada uji klinis *P. niruri* menunjukkan efektivitas yang lebih baik pada terapi herpes zoster maupun ISPA jika dibandingkan dengan plasebo (Kurniati, 2002). Perbaikan tersebut diperkirakan karena efek imunostimulansia *P. niruri* yang banyak mengandung senyawa flavonoid, polifenol maupun alkaloid (Labadie, 1986; Subarnas & Sidiq, 1993; Ma'at, 1997; 2001; Liu et al., 2001; Kurniati, 2002). Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh ekstrak etanol *P. niruri* terhadap aktivitas sekresi ROI oleh makrofag mencit Swiss jantan yang diinfeksi *P. berghei* dan mengkaji hubungan antara aktivitas sekresi ROI dengan tingkat parasitemianya.

METODOLOGI

1. 11)an

Hewan coba yang dipakai dalam penelitian ini adalah mencit galur *Swiss* jantan yang berumur 6-8 minggu berat berkisar 20-30 gram diperoleh dari Laboratorium Parasitologi FK UGM. Mencit dipelihara dalam sangkar besi berukuran 50 x 30 x 20 cm, tiap sangkar berisi 8 ekor mencit, diberi makan pellet 529 dan diberi minum secukupnya (Wijayanti, 1999). Tanaman uji yang dipakai pada penelitian adalah herba meniran (*P. niruri*) yang diambil dari kawasan pertanian di Kulon Progo.

2. Alat

Seperangkat alat untuk pembuatan ekstrak yaitu soxhlet, evaporator dan seperangkat gelas. Seperangkat alat bedah untuk pengambilan darah dalam pembuatan vaksin dan isolasi makrofag. Seperangkat alat untuk kultur makrofag yaitu mikrokultur 24 sumuran dan inkubator CO₂. Alat untuk pembuatan sediaan apusan darah tipis yaitu objek gelas dan mikroskop cahaya untuk pemeriksaan makrofag dan parasitemia.

3. Jalannya Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol : Tanaman uji setelah dideterminasi, diproses untuk menjadi sediaan 36)trak etanol. Pembuatan ekstrak etanol *P. niruri* dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM dengan alat soxhlet menggunakan etanol 9 35) Sebanyak 50 gram serbuk kering *P. niruri* dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan dalam alat soxhlet, kemudian ditambahkan 300 ml etanol 95% dan dihubungkan dengan pendingin balik. Proses ekstraksi dilakukan sampai sari yang terdapat dalam tanaman *P. niruri* habis (ditandai dengan cairan penyari telah bening, kira-kira 6 jam). Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator hingga etanolnya sedikit kemudian dipindahkan dan diuapkan. Ekstrak disimpan dalam botol steril. *Pembuatan vaksin* : Pembuatan vaksin diawali dengan menginfeksi *P. berghei* ke tubuh hewan coba dengan cara seperti yang dilakukan oleh Supargiyono (1995) ya 2) dengan menyuntikkan secara intraperitoneal 0,2 ml inokulum yang mengandung 1 X 10⁶ parasit stadium eritrosit kepada tiap mencit. Darah mencit *Swiss* dengan parasitemia lebih dari 60% diambil melalui fungsi jantung dan ditampung pada tabung yang telah diberi heparin, kemudian dicuci dengan *phosphat buffered saline* (PBS) 3x dengan cara disentrifugasi 3000 RPM, *buffy coat* yang terbentuk dibuang. Eritrosit yang diperoleh dilisiskan dengan cara menambah 40 volume 0.01% saponin (Eastman Ltd) dalam PBS selama 30 menit pada suhu 37°C. Suspe 14) parasit yang didapat disentrifus pada 15.000 selama 5 menit pada suhu 4°C. Pelet yang didapat 29) diresuspendikan dalam PBS dan disentrifus 150 g

selama 10 menit pada suhu 4°C. Lapisan atas (berpigmen) yang mengandung parasit dipisahkan dan disuspensikan dalam 0,6% formalin dalam PBS selama 5 menit pada suhu kamar. Parasit yang diperoleh dicuci 2x dengan PBS. Parasit kemudian diresuspensikan dalam PBS sehingga didapat konsentrasi 1×10^9 parasit/ml dan dapat disimpan pada - 20°C sampai akan digunakan.

Uji sekresi ROI : Uji sekresi ROI makrofag dilakukan dengan tahapan sebagai berikut 1) mencit galur 133viss jantan berumur antara 6-8 minggu yang dipilih secara acak dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing 10-15 ekor. Kelompok I, II, dan III sebagai kelompok perlakuan diberi ekstrak dengan dosis berturut-turut 5, 10, dan 100 mg/kg BB/hari. Kelompok IV sebagai kontrol positif diberi vaksin malaria *P. berghei* stadium eritrosit sebanyak 0.2 ml yang mengandung 2×10^5 parasit ekstraseluler ditambah dengan 0,2 ml freuds complete adjuvant (H34) yang diberikan secara injeksi intraperitoneal sebanyak 2 kali yaitu pada hari pertama dan 2 minggu berikutnya dengan booster. Kelompok V sebagai kontrol negatif diberi air. Pemberian air dan larutan ekstrak etanol *P. niruri* dilakukan secara peroral menggunakan kanula intragastrikum selanjutnya 14 hari sebelum hewan coba diinfeksi dilanjutkan selama 7 hari pasca infeksi (Ratnaningsih, 2001). Pada hari ke-14 dilakukan infeksi pada semua kelompok hewan coba dengan cara menyuntikkan intraperitoneal 0,2 ml inokulum yang mengandung 1×10^6 parasit *P. berghei* stadium 2 eritrositik tiap mencit (Wijayanti, 1996); 2). Isolasi dan kultur makrofag dari kelima kelompok mencit pada hari ke-14 setelah perlakuan dengan cara 3 ekor 3) dibunuh dengan narkose menggunakan kloroform. Mencit diletakkan dalam posisi telentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan selubung peritoneumnya dengan alkohol 70%, kemudian disuntikkan 10 ml medium RPMI dingin ke dalam rongga peritoneum, ditunggu selama 3 menit sambil digoyang-goyang secara perlahan. Cairan peritoneum dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan cara menekan rongga dalam dengan 2 jari, cairan diaspirasi dengan spuit injeksi, dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus. Aspirat disentrifuse pada 1200 rpm, 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang, pellet diresuspensi dengan RPMI yang mengandung FBS 10%. Jumlah sel dihitung dengan hemositometer dan ditentukan viabilitasnya dengan larutan trypan blue, kemudian ditambahkan dengan medium komplet sehingga didapatkan suspensi sel dengan kepadatan $2,5 \times 10^6$ /ml. Suspensi sel ditumbuhkan dalam mikrokultur 24 sumuran yang telah diberi coverslips bulat. Setiap sumuran diisi 200 mikroliter (5×10^5 sel). Sel inkubasikan dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 30 menit,

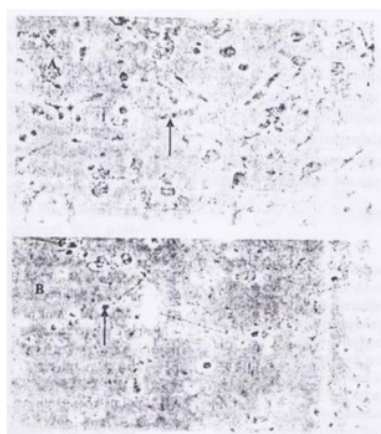
kemudian ditambahkan medium komplet sebanyak 1 ml tiap sumuran dan diinkubasikan 2 jam. Sel dicuci 2x dengan RPMI 1 ml tiap sumuran dan inkubasi dalam medium komplet dilanjutkan sampai 24 jam (Wijayanti, 1996; 1997; 1999); 3) Uji sekresi ROI oleh makrofag dengan NBT reduction assay (Wijayanti, 1997). Dengan adanya O₂ - NBT akan teroksidasi membentuk presipitat formazan yang tidak terlarut. Untuk menginduksi sekresi anion superoksida, kultur sel makrofag distimulasi dengan phorbol 12myristate 13 acetat (PMA) dengan konsentrasi akhir 16 ng/ml. Makrofag yang telah dikultur selama 24 jam dicuci 2x dengan medium RPMI, kemudian ditambahkan 500 µl larutan NBT, 1 mg/ml PBS yang mengandung 125 ng/ml PMA dan diinkubasikan dalam incubator CO₂ 5%, 37°C selama 60 menit. Sel kemudian dicuci dengan PBS 3x, dikeringkan pada suhu kamar dan difiksasi dengan metanol absolut selama 30 detik. Setelah kering dipulas dengan neutral red solution 2%. Persentase sel makrofag yang menunjukkan reduksi NBT dihitung dari sekitar 100 sel yang diperiksa dengan mikroskop cahaya perbu saran 400x (Ratnaningsih, 2001). Perhitungan persentase sel makrofag yang menunjukkan reduksi NBT diulang sebanyak 3x; 4). Pemeriksaan parasitemia dilakukan pada sediaan darah 1 tipis menurut. Sebanyak 1 tetes darah yang diambil dari ujung ekor mencit ditempatkan pada ujung dari gelas benda, dan segera gelas benda yang lain ditempatkan disebelah kiri dekat dengan tetesan darah tadi. Gelas benda digeserkan ke kanan gelas benda tadi sampai menyentuh tetesan darah, sehingga tetesan darah akan mengisi pertemuan kedua gelas benda tadi. Kedua gelas benda tersebut dibuat sudut 30-45°, dengan kecepatan tetap gelas benda digeser ke kiri sehingga diperoleh sediaan yang tipis dan merata. Sediaan darah dibiarkan dalam temperature hingga kering, Sediaan darah yang sudah kering difiksasi dengan metanol 3% sampai kering. Sediaan diletakkan pada rak yang datar dan digenangi dengan larutan giemsa 10% selama 15 menit. Dicuci dengan air mengalir sebentar sehingga larutan giemsa hilang, kemudian dikeringkan pada temperatur kamar. Sediaan darah diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x dan diberi 4 inyak emersi. Diperiksa persentase parasitemia masing-masing sediaan, pemeriksaan ini dilakukan untuk setiap 1000 eritrosit. Analisis hasil : Perbedaan rerata sekresi ROI oleh makrofag mencit antar berbagai kelompok dalam satu kali pengamatan dianalisis dengan ANAVA, sedangkan hubungan antara aktivitas sekresi ROI dengan parasitemia mencit dianalisis dengan uji korelasi Pearson.

HASIL DAN PEMBAHASAN

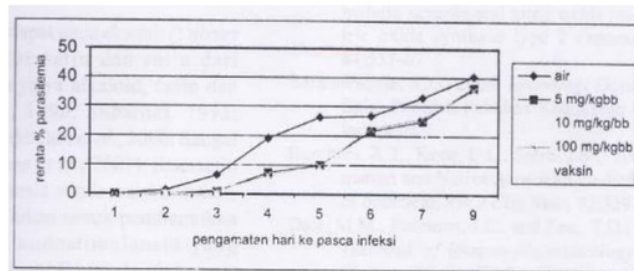
Reduksi NBT menunjukkan adanya lonjakan irasi diikuti dengan pembentukan superoksida (O_2) yang akan mereduksi NBT menjadi produk reaksi formazan yang tidak terlarut. Formazan yang terbentuk dapat diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 200x. Gambaran makrofag dengan endapan garam formazan di dalamnya terlihat pada gambar 1. Semakin banyak endapan garam formazan dalam makrofag menunjukkan semakin tinggi aktivitas sekresi ROI oleh makrofag. Kelompok perlakuan dengan pemberian dosis pemberian 10 mg/kgbb/hari EEPN memberikan gambaran sekresi ROI oleh makrofag yang lebih banyak (gambar 1a) dari pada kelompok perlakuan lainnya. Sekresi ROI oleh semua kelompok pada empat kali pengukuran terlihat pada gambar 2. Rerata parasitemia pada hewan coba pada pengukuran sejak hari pertama setelah infeksi disajikan pada gambar 3. Dari gambar 2 terlihat bahwa makrofag peritoneum dari semua kelompok hewan coba mampu mensekresi ROI, dimana sekresinya semakin meningkat dari kelompok air ke kelompok vaksin dan dari pengamatan pertama sampai pengamatan ketiga (hari ke-5 pasca infeksi), kemudian menurun pada pengamatan ke empat hari ke-7 pasca infeksi). Sekresi ROI oleh makrofag kelompok perlakuan memiliki rerata lebih tinggi dari kelompok air tetapi lebih rendah dari kelompok vaksin. Efek imunostimulansia ekstrak etanol *P. niruri* dibuktikan dengan meningkatnya sekresi ROI oleh makrofag pada kelompok perlakuan pada semua pengamatan. Pada pengamatan pertama dan kedua kelompok perlakuan dengan dosis 5 mg/kgbb/hari EEPN memiliki rerata sekresi ROI tertinggi diikuti oleh kelompok 10 mg/kgbb/hari EEPN dan yang paling rendah adalah kelompok 100 mg/kgbb/hari EEPN. Pada hari ke-5 pasca infeksi, terjadi puncak aktivitas

sekresi ROI oleh makrofag, dimana kelompok vaksin memiliki rerata persentase sekresi ROI paling tinggi yaitu sebesar $83,33 \pm 3,22\%$ atau 21x normal, diikuti oleh kelompok 10 mg/kgbb/hari sebesar $74,00 \pm 2,00\%$ atau 18x normal, kelompok 5 mg/kgbb/hari sebesar $56,00 \pm 3,79\%$ atau 14x normal dan kelompok 100 mg/kgBB/hari sebesar $39,67 \pm 3,51\%$ atau 10x normal. Sedangkan kelompok air memiliki rerata sekresi ROI paling rendah yaitu $17,33 \pm 3,05\%$ atau 4x normal. Rerata persentase sekresi ROI antar kelompok berbeda secara bermakna ($p < 0.05$). Hasil ini juga sejalan dengan yang didapatkan oleh peneliti sebelumnya (Ma'at, 1997; Ignacio et al., 2001; Akrom, 2004a).

Ekstrak etanol *P. niruri* mampu meningkatkan aktivitas makrofag mencit Swiss dalam mensekresi ROI (Akrom, 2004b), dimana efek stimulasi ini diduga mengakibatkan peningkatan kemampuan makrofag dalam mengeliminir parasit sehingga derajat parasitemia pada kelompok perlakuan lebih rendah dari pada kelompok air. Sesuai dengan meningkatnya aktivitas sekresi ROI oleh makrofag pada kelompok perlakuan, rerata persentase parasitemia yang terjadi pada kelompok perlakuan adalah lebih rendah dibandingkan rerata parasitemia pada kelompok air meskipun tidak serendah pada kelompok vaksin (gambar 3). Dari hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol *P. niruri* sebagaimana vaksin dapat meningkatkan kemampuan fagositosis dan aktivitas parsitidal makrofag mencit Swiss jantan yang diinfeksi *P. berghei*. Aktivitas makrofag dalam fagositosis dan mensekresi ROI berkaitan dengan kemampuannya dalam mengatasi infeksi (Stites & Terr, 1990; Janeway et al., 1994; Shehan, 1997; Yoneto et al., 1999; Wijayanti, 2000; Ignacio et al., 2001; Kun et al., 2001). Uji korelasi Pearson antara rerata persentase sekresi ROI oleh makrofag dengan rerata persentase



Gambar 1. Gambaran makrofag mencit dan aktivitas sekresi ROI setelah pemberian ekstrak etanol *P. niruri* selama 14 hari dan setelah 5 hari infeksi *P. berghei*. (A) Makrofag dengan sekresi ROI tinggi terjadi pada kelompok II (dosis 10 mg/kgbb/hari); (B) Makrofag dengan sekresi ROI rendah terjadi pada kelompok III (dosis 100 mg/kgbb/hari). Tanda panah menunjukkan endapan formazan yang terbentuk akibat direduksinya NBT oleh ROI yang dihasilkan makrofag (Perbesaran 200x)



Gambar 3. Rerata tingkat parasitemia (%) mencit pada berbagai hari pengamatan dari ke 5 kelompok perlakuan



Gambar 2. Rerata persentase makrofag mencit yang mensekresi ROI (%) pada hari ke-0, ke-2, ke-5 dan ke-7 pasca infeksi dari ke 5 kelompok perlakuan

parasitemia hewan uji menunjukkan bahwa sekresi ROI berhubungan terbalik dengan tingkat parasitemia ($r=-0,496$). Hal itu menunjukkan bahwa sekresi ROI oleh makrofag berkaitan dengan kemampuan makrofag mengeliminir parasit.

Supargiyono (1995), Fitri (1996) dan Wijayanti (1997; 1999; 2000) menunjukkan bahwa pemberian vaksin malaria *P. berghei* stadium eritrosit dapat meningkatkan aktivitas parasitidal makrofag mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei*. Hal ini ditunjukkan dengan semakin tingginya sekresi ROI oleh makrofag mencit Swiss kelompok vaksin. Dimana puncak aktivitas sekresi ROI pada penelitian tersebut dicapai pada hari ke-6 pasca infeksi dan bertahan hingga mencit kelompok ini sembuh. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa tingginya kadar NO pada urin dan plasma pada anak-anak di daerah endemik malaria di Tanzania dapat mencegah beratnya gejala malaria dan menghindarkan anak dari malaria yang fatal (Anstey et al., 1996). Meningkatnya sekresi NO dan aktivitas NOS pada darah tepi anak-anak di Gabonase juga memberikan efek proteksi yang lebih baik (Perkins et al., 1999). Hal itu dikarenakan ROI disamping berfungsi sebagai mikrobisidal juga memiliki peran sebagai mediator reaksi inflamasi serta aktivator makrofag (Abbas et al., 1994; Dale et al., 1994; Kresno, 2001; Hidayati & Akrom, 2003).

Kandungan yang terdapat pada ekstrak *P. niruri* diantaranya adalah kuersetin dan rutin dari golongan flavonoid, senyawa alkaloid, tanin dan sa (18)nin (Kenny et al., 1990; Subarnas, 1993; Winarno et al., 1993; Middleton et al., 2000; Sangat et al., 2000; Raj Narayana et al., 2001). Kuersetin dapat menginduksi sintesis nitric-oxide sintase, suatu enzim yang

diperlukan untuk pembentukan oksida nitrat. Efek imunostimulansia yang diberikan oleh ekstrak etanol *P. niruri* pada mencit Swiss yang diinfeksi *P. berghei* diduga melalui peningkatan sintesis nitric-oxide sintase ini (Kenny et al., 1990; Middleton et al., 2000; Borchers et al., 2001; Nijveldt et al., 2001).

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol herba meniran (*P. niruri*) mampu meningkatkan aktivitas sekresi ROI oleh makrofag mencit Swiss jantan yang diinfeksi *P. berghei*.
2. Terdapat hubungan terbalik antara aktivitas sekresi ROI makrofag mencit Swiss jantan yang diinfeksi *P. berghei* dengan tingkat parasitemianya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini melalui proyek Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor 105/P2ipt/Dppm/Pid/11i/2004.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pober, J.S., 1994,

Cellular and Molecular Immunology. Second Ed., Philadelphia : W.B. Saunders Company

- Akrom, 2004^a, Pengaruh pemberian ekstrak etanol herba meniran (*P. niruri*) terhadap sekresi ROI oleh makrofag peritoneum mencit Swiss jantan, Prosiding Seminar Nasional Farmakoterapi 2004, UAD Pres., Yogyakarta
- Akrom, 2004^b, Pengaruh pemberian ekstrak etanol herba meniran (*P. niruri*) terhadap fagositosis makrofag mencit Swiss jantan, Prosiding seminar Nasional Kimia 2004, Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY, Yogyakarta
- Anstey, N.M., Weinberg, J.B., Hassanali, M.Y., Mwaikambo, E.D., Manyenga, D., Misukonis, M.A., Arnelle, D.R., Hollis, D., McDonald, M.I., Granger, D.L., 1996, Nitric oxide in Tanzanian children with malaria: inverse relationship between malaria severity and nitric oxide production/nitric oxide synthase type 2 expression, *JEM*, 84:557-67
- Baratawidjaja, K.G., 2004, *Imunologi Dasar*, Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Borchers, A.T., Keen, C.L., Stern, J.S., 2000, Inflammation and Native American medicine: the role of botanical, *Am.J. Clin Nutr*, 72:339-47
- Dale, M.M., Foreman, J.C., and Fan, T.D., (ed.) 1994, *Textbook of Immunopharmacology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications
- Fitri, L.K., 1996, Kaitan antar kadar interferon α dan Tumor Necrosis Factor dengan imunitas terhadap infeksi malaria (Tesis). Jogjakarta : Pasca Sarjana UGM
- Hidayati, T., Akrom, 2003, Respon imun pada infeksi malaria, *Jurnal Mutiara Medika*, 1.2: 85-95
- Ignacio, S.R., Ferreira, J.L., Almeida, M.B., Kubelka, C.F., 2001. Nitric oxide production by murine peritoneal macrophages in vitro and in vivo treated with *Phyllanthus tenellus* extracts. *J.Ethnopharmacol.* 74, 2: 181-7
- Janeway, C.H., Travers, Hunt, S., Walport, M., 1994, *Immunobiology the immune system in health and disease*, London: Current Biology Ltd
- Kenny, M.T., Balistreri, J., Torney, H.L., 1990, Flavonoid modulation of murine neutrophil cytokinesis, *Immunopharmacol/Immunotoxicol* 12, 3:527-41
- Klein, J., 1991, Defence reactions mediated by phagocytes. Dalam J. Klein, *Immunology*. Oxford: Black well Scientific Publications
- Kresno, S.B., 2001, *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed. Keempat. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Kur, J.F., Mordmuller, B., Perkins, D.J., 2001, Nitric oxide synthase 2 (Lambarene) (G-954C), increased nitric oxide production, and protection against malaria, *J. Infect. Dis.*, 184, 3: 330-6
- Kumiati, S.C., 2002, Pengobatan oral infeksi virus varicella-zoster dengan kombinasi ekstrak *phyllanti* Herba dan terapi standar dibandingkan dengan terapi standar tunggal. *Dexa Media*, 15, 4: 109-17
- Labadie, R.P., 1986, *Immunomodulative activities by constituents and preparations of medicinal plants*, Surabaya: Makalah dipresentasikan pada Symposium on Research of Medicinal Plants and Expo Jamu
- Liu, J., McIntosh, H., Lin, H., 2001, Genus *Phyllanthus* for Chronic hepatitis B virus infection: a systematic review., *J. Viral Hepat*, 8, 5:358-66
- Ma'at, S., 1997, *Phyllanthus niruri L sebugai imunomodulator pada mencit (Desertasi)*, Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga
- Ma'at, S., 2001, *Obat Asli Untuk Pelayanan Kesehatan Formal*, Jember: Seminar sehari Potensi Tanaman Obat Indonesia dalam Menunjang Pelayanan Kesehatan dan Perekonomia Indonesia
- Middleton, J.R.E., Kandaswami, C., and Theoharides, T.C., 2000, The effects of Plant Flavonoids on Mammalian cells: Implication for inflammation, Heart Disease and Cancer, *Pharmacol. Rev.*, 52:673-751
- Mursito, B., 2002, *Ramuan Tradisional untuk Pencegahan malaria*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Horn, D.E.C., Boelens, P.G, Van Norten, K., Van Leeuwen, P.A.M., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential application, *Am. J. Clin. Nutr*, 74: 418-25
- Perkins, D.J., Kremsner, P.G., Schmid, D., Misukonis, M.A., Kelly, M.A., Weinberg, J.B., 1999, Blood mononuclear cell nitric oxide production and plasma cytokine levels in healthy Gabonese children with prior mild or severe malaria, *Infect.Immunol.*, 67, 9:4977-81
- Ratnaningsih, T., 2001, Efek ekstrak polifenol teh hijau terhadap respon imun seluler mencit selama infeksi *Salmonella typhimurium*. (Tesis) Jogjakarta: Pasca Sarjana UGM

- 44
Raj Nayarana, K., Reddy, M.S., Chaluvadi. M.R., Krishna, D.R., 2001, Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential, Ind. J. Pharmacol. 33: 2-16
- 12
Sangat, H.M., Zuhud, E.A.M., dan Damayanti, E.K., 2000, *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia*, Jakarta: Yayasan Obor Indonesia
- 1
Sheehan, S., 1997. *Clinical Immunology: Principles and Laboratory Diagnosis*. Second ed. Philadelphia: Lippincott
- Stites, D.P., dan Terr, A.I., 1990, Basic Human Immunology. San Francisco : Prentice-Hall International inc.
- 38
Subarnas, A., dan Sidik, 1993, Phyllanthus niruri L. Kimia, Farmakologi dan Penggunaannya sebagai Obat Tradisional. Warta Tumbuhan Obat Indonesia, 2, 4: 13-15
- 41
Subramoniam, A., Evans, D.A., Rajasekharan, S., Pushpangadan, P., 2000, Effect of Trichopus zeylanicus Gaertn (active fraction) on Phagocytosis by Peritoneal Macrophages and Humoral Immune in Response in Mice, Ind. J. Pharmacol., 32: 221-5
- 43
Supargiyono, 1995, Cell mediated immunity in malaria: changes in numbers of mononuclear phagocytes during Plasmodium vinckei petteri infection in immunized and non-immunized mice, BIK, 27, 1: 1-12
- 16
Wijayanti, 1996, Peranan makrofag dalam imunitas terhadap infeksi malaria, (Tesis) Yogyakarta: Program Pasca Sarjana UGM
- 1
Wijayanti, M.A., 1997, *Pengaruh imunisasi mencit dengan parasit stadium eritrositik terhadap infeksi plasmodium berghei*, BIK., 28, 2: 53-9
- Wijayanti, M.A., 1999, Kemampuan fagositosis makrofag peritoneum mencit yang diimunisasi selama infeksi P.berghei, BIK, 31, 4: 213-8
- 1
Wijayanti, M. A., Suprgiyono, dan Fitri, L.K., 1999, Sekrei Tumor Necrosis Factor dan Reactive Oxygen Intermediates oleh makrofag peritoneum mencit yang distimulasi dengan antigen terlarut Plasmodium falciparum. BIK., 31, 1: 23-7
- Wijayanti, M.A., 2000, *Sekresi reactive oxygen intermediates oleh makrofag peritoneum mencit yang diimunisasi selama infeksi Plasmodium berghei*, BIK. 32, 2: 77-82
- Winarno, M.W., Sundari, D., dan Paramita, D.I., 1993, Beberapa Informasi Penelitian Khasiat Keamanan dan Fitokimia Tanaman Meniran (P. niruri), Warta Tumbuhan Obat Indonesia, 2. 4: 24-35
- 5
Yoneto, T., Yoshimoto, T., Wang, C.R., Takahama, Y., Tsuji, M., Waki, S., Nariuchi, H., 1999, Gamma interferon production is critical for protective immunity to infection with blood-stage P. herghei XAT but neither NO production nor NK cell activation is critical, Infect. Immun., 67, 5: 2349-56

Jurnal Edited (cek similarity).docx

ORIGINALITY REPORT

22%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	journal.umy.ac.id Internet	150 words — 4%
2	webicdn.com Internet	67 words — 2%
3	mot.farmasi.ugm.ac.id Internet	63 words — 2%
4	pt.scribd.com Internet	53 words — 1%
5	theses.gla.ac.uk Internet	46 words — 1%
6	biosains.mipa.uns.ac.id Internet	46 words — 1%
7	www.scribd.com Internet	29 words — 1%
8	www.jvetunud.com Internet	28 words — 1%
9	www.sainsmedika.fkunissula.ac.id Internet	28 words — 1%
10	seminarfarmasi.setiabudi.ac.id Internet	28 words — 1%
11	eprints.undip.ac.id Internet	22 words — 1%

12	adoc.tips Internet	21 words — 1%
13	etheses.uin-malang.ac.id Internet	19 words — < 1%
14	repository.unair.ac.id Internet	17 words — < 1%
15	espace.cdu.edu.au Internet	16 words — < 1%
16	www.repository.ugm.ac.id Internet	16 words — < 1%
17	jurnal.unsyiah.ac.id Internet	12 words — < 1%
18	estudogeral.sib.uc.pt Internet	12 words — < 1%
19	jurnal.uns.ac.id Internet	12 words — < 1%
20	Seyoum, A.. "Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids", <i>Phytochemistry</i> , 200609 Crossref	11 words — < 1%
21	es.scribd.com Internet	11 words — < 1%
22	repositorio.ufpe.br Internet	10 words — < 1%
23	jai.aquaculture-mai.org Internet	10 words — < 1%
24	eprints.ums.ac.id Internet	10 words — < 1%

25	media.neliti.com Internet	10 words — < 1%
26	L. B. M. Tijburg, T. Mattern, J. D. Folts, U. M. Weisgerber, M. B. Katan. "Tea flavonoids and cardiovascular diseases: A review", <i>Critical Reviews in Food Science and Nutrition</i> , 1997 Crossref	9 words — < 1%
27	lib.dr.iastate.edu Internet	9 words — < 1%
28	biologie.univ-mrs.fr Internet	9 words — < 1%
29	zh.scribd.com Internet	9 words — < 1%
30	iai.asm.org Internet	8 words — < 1%
31	studentsrepo.um.edu.my Internet	8 words — < 1%
32	jusami.batan.go.id Internet	8 words — < 1%
33	akkes.saptabakti.ac.id Internet	8 words — < 1%
34	mademiladewiastuti.wordpress.com Internet	8 words — < 1%
35	repository.ipb.ac.id Internet	8 words — < 1%
36	jurnal.usu.ac.id Internet	8 words — < 1%

37	pio.uad.ac.id Internet	8 words — < 1%
38	file.upi.edu Internet	7 words — < 1%
39	www.health.vic.gov.au Internet	7 words — < 1%
40	Hunt, N.H.. "Immunopathogenesis of cerebral malaria", International Journal for Parasitology, 200605 Crossref	7 words — < 1%
41	jntbgri.res.in Internet	6 words — < 1%
42	citeseerx.ist.psu.edu Internet	6 words — < 1%
43	repository.ugm.ac.id Internet	5 words — < 1%
44	www.ajbrui.net Internet	5 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES ON
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES OFF